

离心分析用蔗糖密度梯度简易制备法

A SIMPLE METHOD FOR PREPARING LINEAR SUCROSE DENSITY GRADIENT USED FOR CENTRIFUGAL ANALYSIS

夏 邦 颖

(中国科学院动物研究所)

Hsia Pang-ying

(Institute of Zoology, Academia Sinica)

在生化分析研究工作中,经常需要使用蔗糖密度梯度离心分析。制备蔗糖密度梯度的装置,在国外多已商品供应,如瑞典LKB公司出售的密度梯度分配器就是比较完善的工具。在国内尚无成品供应,由于在研究工作中需要使用蔗糖密度离心分析,就促使设计制作小型简易蔗糖密度梯度分配器,如附图1所示。

蔗糖密度梯度分配器分下列几个部分:

①蔗糖梯度母液玻璃容器:每组由两个直径相等的玻璃管组成,一组玻管内径为0.8cm,高8cm,可为5ml离心管制备蔗糖梯度溶液。另一组玻管内径为2.6cm,高9cm,可为30ml的离心管制备蔗糖梯度溶液,或可供70ml以下线性梯度溶液洗脱小型层析柱用。每组管子其中一只下部烧结上两个对称的小玻管开口,另一只仅烧结一个小玻管开口,两玻管之间用聚乙烯管相连,用螺旋夹夹住。

②直流小搅拌器部分:用一个上海玩具元件二厂出产的D-45型直流电动机带动一段白金丝环作为小搅拌器。电源部分为两节1号电池。由于找不到50Ω或再小一些的电位器,暂用100Ω电位器,串联于电路中,用以调节直流电动机的转速。直流小搅拌器线路装置如附图2所示。

使用方法:先在二玻璃管中分别盛入一定体积的两种浓度之蔗糖溶液。闭合电路,调节电位器,起动直流电动机。旋松螺旋夹,使二玻璃管相通。开动连于玻管出口聚乙烯管上的蠕动泵(北京青云仪器厂生产),使蔗糖密度梯度溶液沿离心管壁缓缓注入离心管中。然后在梯度溶液上面轻轻铺上离心分析样品,将此离心管装于甩头上,进行离心分析。

笔者利用上述装置,制备5—20%(W/V)蔗糖密度梯度,分析家蚕丝腺rRNA的亚单位(夏邦颖等,1979);还制备10—50%(W/V)蔗糖密度梯度,分析家蚕后丝腺的多核糖体(夏邦颖等,1980)。此外,尚可用做为小体积的线性密度梯度洗脱装置,如图3所示,利用羟基磷灰石柱和0.1M—0.4M线性磷酸缓冲液分离rRNA和DNA混合样品。

参 考 文 献

夏邦颖 郭 郭 1979 家蚕丝腺和卵巢核糖体核酸的理化性质 生物化学与生物物理学报 11(2):105—112.

夏邦颖 郭 郭 1980 家蚕后丝腺多聚核糖体的研究 中国科学院动物研究所论文集刊第一集(待发表)

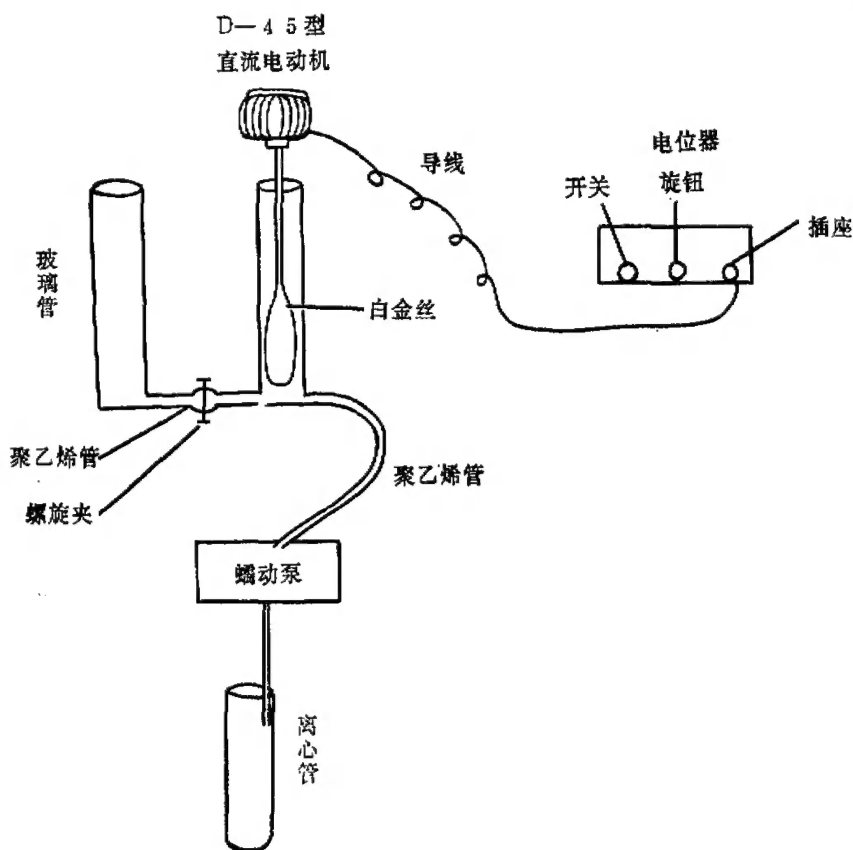


图1 小型蔗糖密度梯度分配器示意图

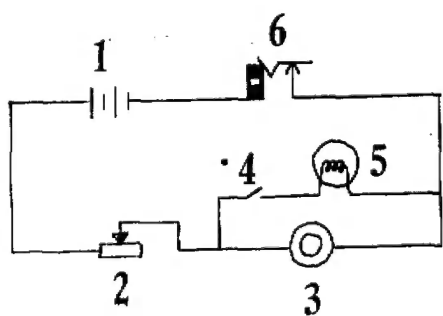


图2 直流小搅拌器线路装置图

1. 直流电源，两节1号电池
 2. 电位器
 3. 直流电动机，D—45型；或用
其他型号
 4. 开关
 5. 灯泡
 6. 插头
- 黑线部分为导线

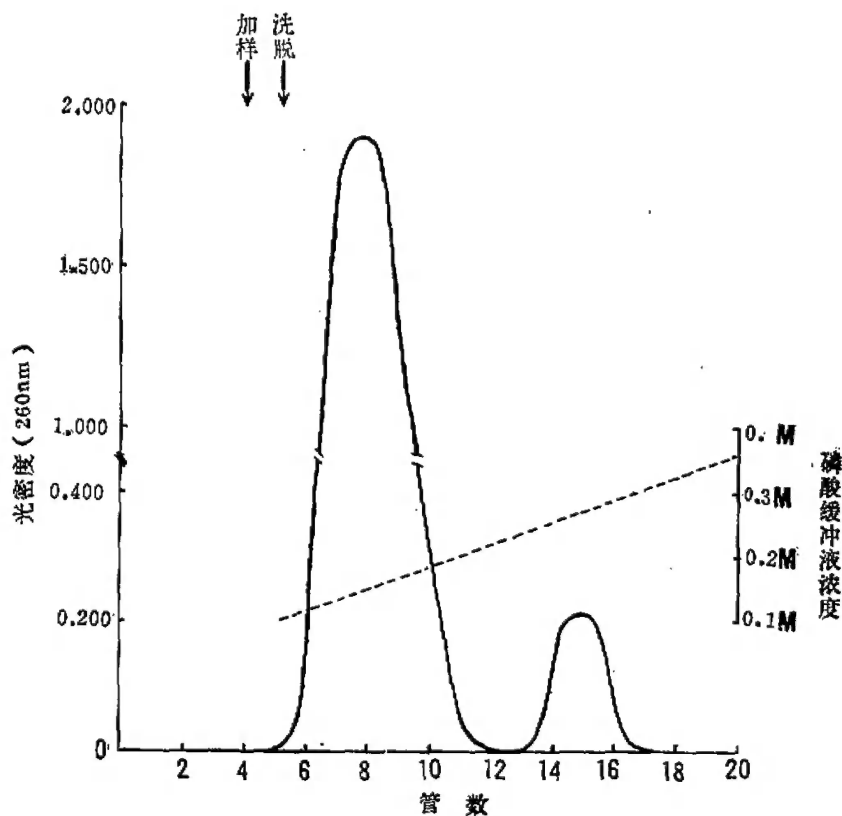


图3 利用羟基磷灰石柱分离实验混合的家蚕丝腺 γ RNA和鼠睾丸DNA

实验条件: 羟基磷灰石柱 $1.15 \times 7.5\text{cm}$ (柱内径 \times 柱长度)

样品: 家蚕丝腺 γ RNA 700 γ +鼠睾丸DNA 77 γ

洗脱溶液: 0.1—0.4M 线性磷酸缓冲液 (32ml+32ml共64ml)

收集: 每3.5ml收集于1管, O.D260nm测定洗脱曲线

利用Abbe折射仪测定各管磷酸缓冲液浓度

结 果: 第一峰区为 γ RNA, 第二峰为DNA, 分离效果良好。